



PCT/AT 03 / 00324

## ÖSTERREICHISCHES PATENTAMT

A-1200 Wien, Dresdner Straße 87

Kanzleigebühr € 26,00  
Schriftengebühr € 104,00



Aktenzeichen A 1649/2002

Das Österreichische Patentamt bestätigt, dass

**die Firma ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS- UND ENTWICKLUNGS GMBH  
in A-8036 Graz, Auenbruggerplatz 25  
(Steiermark),**

am **31. Oktober 2002** eine Patentanmeldung betreffend

**"Verfahren und Vorrichtung zur Manipulation mit Proben",**

überreicht hat und dass die beigeheftete Beschreibung samt Zeichnungen  
mit der ursprünglichen, zugleich mit dieser Patentanmeldung überreichten  
Beschreibung samt Zeichnungen übereinstimmt.

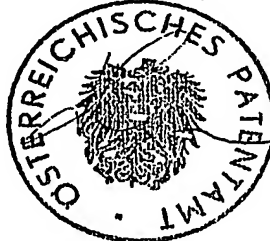
BEST AVAILABLE COPY

Österreichisches Patentamt  
Wien, am 11. November 2003

Der Präsident:

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

i. A.



**HRNCIR**  
Fachoberinspektor



A1649/2002

Urtext

R 40398

(51) Int. Cl.:

AT PATENTSCHRIFT

(11) Nr.

(73) Patentinhaber: ORIDIS BIOMED FORSCHUNGS- UND  
ENTWICKLUNGS GMBH  
Graz (AT)

(54) Titel: Verfahren und Vorrichtung zur Manipulation mit Proben

(61) Zusatz zu Patent Nr.:

(66) Umwandlung von GM /

(62) gesonderte Anmeldung aus (Teilung): A

(30) Priorität(en):

(72) Erfinder:

(22) (21) Anmeldetag, Aktenzeichen: 31. OKT. 2002 , A /

(60) Abhängigkeit:

(42) Beginn der Patentedauer:

Längste mögliche Dauer:

(45) Ausgabetag:

(56) Entgegenhaltungen, die für die Beurteilung der Patentierbarkeit in Betracht  
gezogen wurden:

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, wobei aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebeteilen mit Hilfe von Nadeln an definierten Positionen Proben ausgestochen werden, welche Proben in freigestochene Löcher in Probenträgern eingebracht werden.

Die Erfindung betrifft weiters eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einer Nadel zum Ausstechen von Proben aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung zum Steuern der Nadel.

Unter den Begriff Präparate fallen dabei insbesondere menschliche oder tierische Gewebeteile. Es können jedoch mit dem erfindungsgemäßen Verfahren und der erfindungsgemäßen Vorrichtung auch andere Stoffe bzw. Substanzen, wie z.B. eingebettete Zell- oder Bakteriensuspensionen, aber auch Pflanzen bzw. Pflanzenteile untersucht und deren Proben manipuliert werden.

Für medizinische aber auch wissenschaftliche Zwecke werden häufig biologische Gewebe von menschlichen und tierischen Organen entnommen und nach einer Reihe von Präparations- und Verarbeitungsschritten verschiedenen Untersuchungen zugeführt, um beispielsweise Krankheiten oder Gewebsveränderungen zu erkennen oder Therapieverläufe beurteilen zu können. Das entnommene Gewebe wird dabei üblicherweise in Paraffin, Kunststoff oder ein anderes vergleichbares Material eingebettet und aus diesem eingebetteten Gewebsteil eine oder mehrere gezielte Proben ausgestochen. Zu diesem Zweck werden mit Nadeln zylinderförmige Gewebeproben ausgestochen. Diese ausgestochenen Gewebeproben werden dann in entsprechend große ebenfalls mit Hilfe von Nadeln ausgestochene Löcher in einem Probenträger eingebracht. Der Probenträger besteht auch meist aus Paraffin, Kunststoff oder einem ähnlichen Material. Darüber hinaus sind thermoplastische Materialien zur Einbettung von Präparaten, insbesondere Gewebeteilen, aber auch zum Einbringen von Proben bekannt, welche bei Zimmertemperatur gelförmig sind und bei tiefer Temperatur, beispielsweise bei  $-10^{\circ}$ , fest werden. Mit solchen Materialien können insbesondere Gefrierproben hergestellt werden. Zum Freistechen der Löcher im Probenträger werden Nadeln verwendet, deren Außendurchmesser im Wesentlichen dem Innendurchmesser jener Nadeln entspricht, mit denen die Gewebeproben aus den Gewebeteilen ausgestochen werden. Somit passt die ausgestochene Gewebeprobe exakt in das vorgefer-

tigte Loch im Probenträger. Auf diese Weise werden sog. Gewebearrays oder Microarrays hergestellt, welche eine große Anzahl an nebeneinander angeordneten Gewebeproben enthalten. Aus den so hergestellten Gewebeprobenanordnungen werden meistens mit Hilfe eines Microtoms Schnitte angefertigt, welche histologischen oder pathologischen Untersuchungen zugeführt werden. Dabei können auf Probenträgern, welche beispielsweise eine Größe von 3 x 4 cm aufweisen, einige hundert Gewebeproben angeordnet werden. Dementsprechend hoch ist die resultierende Anzahl von Einzelproben, die nach der Herstellung der Schnitte resultieren und ausgewertet werden müssen. Aufgrund der enormen Mengen an Gewebeproben sollte die Manipulation mit den Gewebeproben möglichst rasch und automatisiert erfolgen. Zu diesem Zweck wurden Vorrichtungen zum Manipulieren mit Gewebeproben geschaffen, mit Hilfe derer solche Gewebeanordnungen möglichst rasch und mit möglichst hoher Genauigkeit hergestellt werden können.

Beispielsweise beschreibt die US 6 103 518 A eine Vorrichtung zur Manipulation mit Gewebeproben der gegenständlichen Art, bei der mit einer Nadel Löcher in Probenträgern freigestochen werden und mit einer weiteren Nadel Gewebeproben aus präparierten Gewebeteilen ausgestochen werden, welche Gewebeproben in die freigestochenen Löcher in den Probenträgern eingebracht werden. Jene Stellen an den Gewebeteilen, an welchen Gewebeproben ausgestochen werden sollen, werden dabei in der Regel manuell ausgewählt, was den Manipulationsvorgang wesentlich verlangsamt. Darüber hinaus wird die Auswahl jener Stellen an den Gewebeteilen, an welchen Gewebeproben ausgestochen werden, meist nur unter optischer Kontrolle durch medizinisches Fachpersonal durchgeführt. Dabei können Gewebeschnitte der Gewebeteile zur Unterstützung der Auswahl der Ausstechpositionen herangezogen werden.

Zur Unterstützung der Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen an den Präparaten werden häufig von den Präparaten Schnitte und makroskopische Aufnahmen gemacht, die zur Auswahl der Ausstechpositionen vom jeweiligen Fachpersonal herangezogen werden. Dabei liefern derartige makroskopische Bilder nur geringe zusätzliche Information zu den Präparaten selbst.

Das Ziel der vorliegenden Erfindung besteht daher in der Schaffung eines Verfahrens zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben der oben angegebenen Art, welches eine möglichst rasche Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen

ermöglicht und möglichst einfach und rasch durchführbar ist. Darüber hinaus sollen mit dem erfindungsgemäßen Verfahren Proben hergestellt werden können, die möglichst hohe Qualität und Spezifität aufweisen.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung besteht in der Schaffung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben der angegebenen Art, welche eine möglichst einfache Auswahl und Definition der gewünschten Ausstechpositionen an den Präparaten zulässt und welche eine automatische oder teilautomatische Manipulation zulässt. Darüber hinaus soll die Vorrichtung möglichst einfach und kostengünstig aufgebaut und möglichst wartungsfrei sein. Weiters soll die Vorrichtung für eine Manipulation einer großen Anzahl von Proben geeignet sein. Nachteile des Standes der Technik sollen vermieden oder zumindest reduziert werden.

Gelöst wird die erste erfindungsgemäße Aufgabe dadurch, dass zumindest ein digitales, mikroskopisches Bild eines Schnitts eines Präparats mit einem Bild der Oberfläche dieses Präparats überlagert wird, und dass auf dem überlagerten Bild Markierungen gesetzt werden, welche die gewünschten Positionen definieren, an welchen die Proben automatisch ausgestochen und in die Löcher der Probenträger eingebracht werden. Die Überlagerung zumindest eines digitalen, mikroskopischen Schnittbildes des Präparats erleichtert die Auswahl der optimalen Ausstechpositionen am Präparat und erhöht somit die Qualität der resultierenden Proben und in der Folge auch die Qualität der Diagnose bzw. des Untersuchungsergebnisses. Durch das Setzen von Markierungen an den gewünschten Ausstechpositionen müssen die Proben nicht sofort nach Auswahl einer bestimmten Position ausgestochen werden, sondern können diese nach Setzen aller Markierungen in einem automatischen Vorgang ausgestochen werden. Durch das Vorhandensein von mikroskopischen Schnittbildern des jeweiligen Präparats resultiert eine detaillierte Information für das jeweilige Fachpersonal, welches die gewünschten Ausstechpositionen auswählt.

Da das Gesichtsfeld eines Mikroskops bei entsprechender Vergrößerung zu gering ist, um den gesamten Schnitt eines Präparats darzustellen, können die digitalen, mikroskopischen Bilder auch in Segmente aufgeteilt werden, welche vor der Überlagerung mit dem Bild der Oberfläche der Präparate zusammengesetzt werden.

Um die Qualität der resultierenden Proben durch optimale

Information über das Präparat noch weiter zu erhöhen, ist vorgesehen, dass die digitalen, mikroskopischen Bilder der Schnitte der Präparate oder deren Segmente entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.

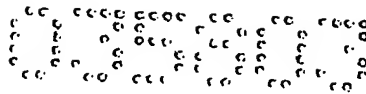
Um einen Ausstechvorgang nach dem Setzen aller Markierungen zu ermöglichen, werden die Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat in einer Datenbank gespeichert. Dadurch kann eine große Anzahl von Präparaten entsprechend bearbeitet und können Markierungen auf den Präparaten gesetzt werden und nachträglich in einem raschen automatischen Vorgang die entsprechenden Proben aus den Präparaten ausgestochen und in entsprechende Probenträger eingebracht werden, die danach den jeweiligen weiteren Untersuchungen zugeführt werden. Die Kennung für das Präparat kann beispielsweise durch einen am Präparat bzw. dem das Präparat umgebenden Paraffinblock angebrachten Barcode oder dergl. gebildet sein.

Um die Auswahl der Ausstechpositionen noch mehr zu unterstützen, können für jedes Präparat mehrere digitale, mikroskopische Schnittbilder ausgewählt werden. Diese Schnittbilder, welche vor dem Manipulationsverfahren aufgenommen wurden, werden dabei ebenfalls zusammen mit der Kennung für das Präparat in einer entsprechenden Datenbank gespeichert.

Zum leichteren Setzen der Markierungen an den gewünschten Ausstechpositionen kann der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden. Somit kann das medizinische Fachpersonal die interessierenden Bereiche vergrößern bzw. sich durch entsprechende Verkleinerungen des Darstellungsmaßstabes einen Gesamtüberblick verschaffen.

Eine Vereinfachung des gegenständlichen Verfahrens wird auch dadurch erzielt, dass die Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben und in ihrer Farbe verändert werden können. Durch Veränderung der Farbe können bestimmte Effekte erzielt werden, welche eine Beurteilung der Schnittbilder aber auch Oberflächenbilder bzw. Überlagerungsbilder erleichtern.

Zur optimalen Darstellung der Überlagerungsbilder kann gemäß einem weiteren Verfahrensmerkmal der Durchscheingrad der Oberflächenbilder in Bezug auf die Schnittbilder verändert werden. Dieser sog. Alphawert gibt an, wie stark das Oberflächenbild des



Präparats im Vergleich zum digitalen, mikroskopischen Schnittbild des Präparats durchscheinen soll.

Weiters kann die Transparenz der Schnittbilder verändert werden, um eine optimale Darstellung der Überlagerungsbilder zu ermöglichen.

Um dem medizinischen Fachpersonal eine Information zum jeweiligen Präparat zukommen zu lassen, kann eine einer Kennung für das Präparat zugeordnete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt werden. Diese Patienteninformation oder dergl. ist vorteilhafterweise ebenfalls in einer Datenbank gespeichert und wird zur Unterstützung des Vorgangs der Auswahl der Ausstechpositionen beispielsweise am Bildschirm angezeigt.

Die gesetzten Markierungen können entsprechend gekennzeichnet werden, was beispielsweise durch eine fortlaufende Nummerierung erfolgen kann. Dadurch wird eine eindeutige Identifikation aller Markierungen möglich.

Um eine Auswahl von Ausstechpositionen auch wieder rückgängig machen zu können, können gesetzte Markierungen selektiert und gelöscht werden.

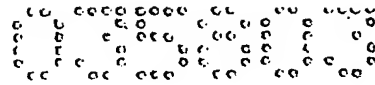
Um bereits ausgewählte Ausstechpositionen korrigieren zu können, ist es von Vorteil, wenn gesetzte Markierungen selektiert und in ihrer Lage verändert werden können.

Wenn den gesetzten Markierungen Kommentare zugeordnet werden, kann nachträglich bei der Auswertung der Proben die Diagnose erleichtert werden.

Den gesetzten Markierungen, welche einzelnen Ausstechpositionen der Proben entsprechen, können bestimmte Probenträger zur Einbringung der ausgestochenen Proben zugeordnet werden. Wird von dieser Möglichkeit nicht Gebrauch gemacht, können beispielsweise die vorhandenen Probenträger sequentiell mit den ausgestochenen Proben befüllt werden.

Werden bestimmte Probenträger den gesetzten Markierungen zugeordnet, können darüber hinaus bestimmte Löcher in diesen Probenträgern den Markierungen zugeordnet werden. Dadurch kann eine eventuell für nachträgliche Untersuchungen der Mikroarrays bzw. Gewebearrays vorteilhafte Anordnung der Proben erreicht werden.

Um später bei der Untersuchung der aus den Gewebeproben hergestellten Schnitten eine eindeutige Zuordnung der einzelnen



im Probenträger angeordneten Gewebeproben zu erzielen, ist vorgesehen, dass die Löcher für die Gewebeproben in dem Probenträger in einem Muster angeordnet werden, welches Muster durch Anordnung der Löcher in Form eines Binärcodes gebildet ist. Dadurch wird eine eindeutige Zuordnung der Proben erzielt. Dadurch wird verhindert, dass der Glasträger mit dem Schnitt der Probe durch Umdrehen des Trägers oder Drehen des Trägers falsch zugeordnete Messergebnisse liefert. Natürlich lassen sich die Proben in vielen verschiedenen Mustern anordnen, welche die Richtung des Mikroarrays eindeutig festlegen.

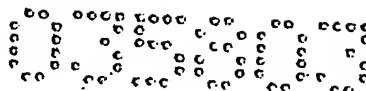
Um zu erzielen, dass die Proben mit einer vordefinierten Stechtiefe aus den Präparaten ausgestochen werden, ist vorgesehen, dass vor dem Ausstechvorgang die Position der Oberfläche der Präparate detektiert wird und die detektierten Positionswerte zusammen mit einer Kennung für die Präparate gespeichert werden. Üblicherweise haben die Präparate unterschiedliche Höhe, so dass zur Erzielung exakter Ausstechtiefen deren Oberfläche detektiert werden muss. Durch die Speicherung der Kennung für die Präparate zusammen mit dem detektierten Positionswert der Oberfläche kann ein automatischer Manipulationsvorgang für eine große Anzahl von Präparaten gestartet werden.

Die Detektion der Oberfläche kann auch bei den Probenträgern, in welche die Proben eingebracht werden, durchgeführt werden. Dadurch wird erreicht, dass die im Probenträger herausgestochenen Löcher immer im Wesentlichen exakt gleich tief sind, so dass die ausgestochenen Proben exakt in die Löcher des Probenträgers passen. Dabei werden die detektierten Positionswerte der Probenträger ebenfalls zusammen mit einer Kennung für die Probenträger gespeichert, so dass sie beim nachfolgenden automatischen Manipulationsvorgang verwendet werden können.

Vorteilhafterweise kann die Stechtiefe der Ausstech- und Freistechvorgänge ausgewählt und den Markierungen zugeordnet werden. Dadurch können für unterschiedliche Ausstechpositionen unterschiedliche Stechtiefen definiert werden bzw. für unterschiedliche Präparate unterschiedliche Stechtiefen gewählt werden.

Nach dem Setzen der letzten Markierung am letzten Präparat wird der automatische Ausstechvorgang gestartet. Dabei werden nacheinander die Präparate unter der Ausstechnadel positioniert und an den gespeicherten Ausstechpositionen Proben ausgestochen,





welche danach in die dafür vorgesehenen Löcher der entsprechenden Probenträger eingebracht werden. Der Ausstechvorgang kann für eine große Anzahl von Proben automatisch und rasch durchgeführt werden.

Um die Nadel von Verunreinigungen zu reinigen, kann diese nach zumindest mehreren Ausstechvorgängen automatisch gereinigt werden. Zu diesem Zweck kann die Ausstechnadel aber auch die Freistechnadel automatisch zu einer Reinigungsstation geführt werden, wo sie mit entsprechender Reinigungsflüssigkeit und Druckluft gereinigt werden kann.

Die zweite erfindungsgemäße Aufgabe wird durch eine oben genannte Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere mit Gewebeproben gelöst, bei der eine Kamera zur Aufnahme von Bildern der Oberfläche der Präparate, weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder der Präparate mit in einem Speicher abgelegten digitalen, mikroskopischen Bildern von Schnitten dieses Präparats, weiters einer Anzeige zur Darstellung der Überlagerungsbilder und einer Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen vorgesehen ist, welche mit der Steuereinrichtung zur Steuerung der Nadeln verbunden ist. Durch die Kamera zur Aufnahme von Oberflächenbildern der Präparate und die Einrichtung zur Überlagerung der Oberflächenbilder mit den mikroskopischen Schnittbildern, kann die Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen unterstützt und beschleunigt werden. Dabei wird die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder vorzugsweise durch einen Rechner gebildet. Nach der Festlegung der definierten Ausstechpositionen können die entsprechenden Steuereinrichtungen zum Steuern der Ausstechnadel entsprechend angesteuert werden, wodurch eine automatische Manipulation mit den Proben resultiert.

Da mikroskopische Bilder, die detaillierte Informationen über spezifische und fokale Veränderungen des Präparats, insbesondere Gewebsveränderungen, beinhalten, eine entsprechend hohe mikroskopische Vergrößerung benötigen, kann, aufgrund des eingeschränkten Bildausschnittes digitaler, mikroskopischer Bilder, in der Regel nicht ein gesamtes Präparat bei Erhaltung der mikroskopischen Detailinformation in einem Bild dargestellt werden. Dies erfordert die Darstellung eines Präparats in mehreren Segmenten, welche jeweils mit dem Bild des Paraffinblocks überlagert werden können. Darüber hinaus kann eine Einrichtung zum

Zusammensetzen der digitalen, mikroskopischen Bilder aus mehreren Segmenten vorgesehen sein. Diese Einrichtung kann ebenfalls durch den bereits oben genannten Rechner bzw. einen gesonderten Rechner oder dergl. gebildet sein.

Durch die Überlagerung mehrerer Bildsegmente, die unabhängig voneinander positioniert werden können, ist es auch möglich, Verzerrungsartefakte, die bei der Herstellung histologischer Schnitte entstehen können, auszugleichen.

Üblicherweise ist zumindest eine Nadel zum Freistechen von Löchern in Probenträgern, in welche die ausgestochenen Proben eingebracht werden, vorgesehen.

Vorteilhafterweise ist eine Datenbank zum Speichern der Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen. Diese Datenbank kann beispielsweise in einem Rechner, der bereits die Einrichtung zur Überlagerung der Bilder repräsentiert, integriert sein, aber auch extern angeordnet sein und mit entsprechenden Datenleitungen mit der Rechneinrichtung oder dergl. verbunden sein.

Um eine optimale Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen zu erzielen, können Einrichtungen zur Änderung des Darstellungsmaßstabes, zur Änderung der Orientierung, zur Verschiebung oder zur Änderung der Farbe der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen sein.

Um das Überlagerungsbild optimal einrichten zu können und somit die Präparate entsprechend beurteilen zu können, können Einrichtungen zur Änderung des Durchscheingrads der Oberflächenbilder in Bezug auf die mikroskopischen Schnittbilder und Einrichtungen zur Änderung der Transparenz der mikroskopischen Schnittbilder vorgesehen sein. Üblicherweise werden die oben genannten Einrichtungen durch einen entsprechenden Rechner gebildet.

Die Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen kann durch eine Computermaschine gebildet sein.

Um eine hohe Qualität und Spezifität der Mikroarrays und somit eine hohe Qualität der resultierenden Messungen an den Proben zu erzielen, kann eine Einrichtung zur Detektion der Position der Oberfläche der Probenträger und bzw. oder Präparate vorgesehen sein. Durch die Feststellung der exakten Position der

Oberfläche der Probenträger und Präparate werden die Löcher in den Probenträgern bzw. die Proben immer exakt mit der definierten Stechtiefe ausgestochen.

Dabei ist ein Speicher für die detektierten Positionswerte der Probenträger bzw. Präparate zusammen mit einer Kennung dieser Probenträger bzw. Präparate von Vorteil. Dieser Speicher kann Teil der oben genannten Datenbank sein.

Vorteilhafterweise sind zumindest eine Freistechnadel und zumindest eine Ausstechnadel auf einem gemeinsamen Schwenkkopf montiert, welcher über einen vorzugsweise pneumatischen Schwenk-antrieb betätigbar ist. Dabei schneiden die Achse der Freistech-nadel und der Ausstechnadel einander im Schwenkpunkt des Schwenkkopfes. Somit kann ein Wechsel zwischen Freistechnadel und Ausstechnadel durch einfaches Schwenken des Schwenkkopfes erzielt werden. Weiters muss lediglich eine Antriebseinrichtung für den Schwenkkopf und müssen nicht mehrere Antriebseinrichtungen für jede Nadel vorgesehen werden.

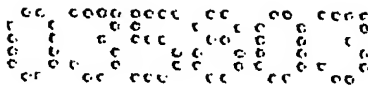
Weiters ist eine Antriebseinrichtung zum Verschieben des Schwenkkopfes gegenüber den Probenträgern bzw. Präparaten vorge-sehen. Diese kann entweder im Schwenkkopf oder in der Unterlage oder den Unterlagen für die Probenträger bzw. Präparate angeord-net sein, so dass eine Verschiebung des Schwenkkopfes bzw. der Nadeln gegenüber den Probenträgern bzw. Präparate erzielbar ist. Auch diese Antriebseinrichtung ist vorzugsweise pneumatisch aus-geführt.

Zur Lösung der erfindungsgemäßen Aufgaben dient auch ein Computerprogrammprodukt, das direkt in den internen Speicher ei-nes digitalen Computers geladen werden kann und Softwarecodeab-schnitte umfasst, wobei mit dem Computer die Schritte des oben beschriebenen Verfahrens abgearbeitet werden, wenn das Produkt auf dem Computer läuft.

Dabei ist das Computerprogrammprodukt vorzugsweise auf einem computerlesbaren Medium gespeichert.

Die vorliegende Erfindung wird anhand von Zeichnungen, wel-che das Prinzip und Ausführungsbeispiele der Erfindung zeigen, näher erläutert.

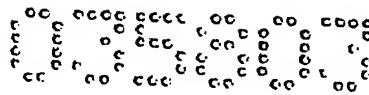
Darin zeigen Fig. 1 eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebepro-ben; Fig. 2 ein schematisches Blockschaltbild einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben; Fig. 3 ein Flussdiagramm zur Veran-



- 10 -

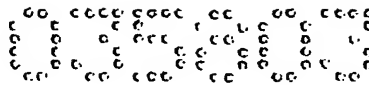
schaulichung des erfindungsgemäßen Verfahrens zur Manipulation mit Proben; und Fig. 4 eine Draufsicht auf eine Ausführungsform eines mit mehreren Proben bestückten Probenträgers.

Fig. 1 zeigt eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben. Dabei sind auf einem Schwenkkopf 1 eine Nadel 2 zum Ausstechen von Löchern in Probenträgern 4 und eine Nadel 3 zum Ausstechen von Proben, insbesondere Gewebeproben aus Präparaten 5 angeordnet. Präparate 5 können biologische oder tierische Gewebeteile aber auch andere Proben, wie z.B. Pflanzen oder Pflanzenteile, Zellsuspensionen oder Bakteriensuspensionen, sein. Der Schwenkkopf 1 ist gegenüber einer Unterlage 6, auf der die Probenträger 4, und einer Unterlage 6', auf der die Präparate 5 platziert sind, verschiebbar angeordnet, so dass die Nadeln 2, 3 in die Probenträger 4 bzw. Präparate 5 eingestochen werden können. Dabei kann eine Antriebseinrichtung 7 zur Verschiebung des Schwenkkopfes 1 und bzw. oder eine Antriebseinrichtung (nicht dargestellt) zur Verschiebung der Unterlagen 6, 6' vorgesehen sein. Die Unterlagen 6, 6' sind in der dargestellten Ausführungsform kreisförmig gestaltet und nebeneinander angeordnet, so dass die Wege des Schwenkkopfes 1 vom jeweiligen Präparat 5 zum gewünschten Probenträger 4 minimal sind. Zur Anordnung der Probenträger 4 bzw. Präparate 5 sind an den Unterlagen 6, 6' entsprechende Halterungen (nicht dargestellt) für die Aufnahme der Probenträger 4 bzw. Präparate 5 vorgesehen. Durch Drehung der Unterlagen 6, 6' mit entsprechenden Antriebseinrichtungen 8 kann eine Auswahl der gewünschten Präparate 5 bzw. Probenträger 4 getroffen werden. Zwischen den Unterlagen 6, 6' für die Probenträger 4 bzw. Präparate 5 kann ein Behälter 15 zur Aufnahme des ausgestoßenen Materials der Probenträger 4 bzw. zur Reinigung der Nadeln 2, 3 vorgesehen sein. Üblicherweise sind die Probenträger 4 und Präparate 5 mit einer eindeutigen Kennung, beispielsweise einem Barcode, versehen, der mit einem entsprechenden Scanner 16 eingelesen werden kann. Die Nadeln 2, 3 sind so am Schwenkkopf 1 angeordnet, dass deren Achsen einander exakt im Schwenkpunkt des Schwenkkopfes 1 schneiden. Damit wird gewährleistet, dass die Freistechnadel 2 und die Ausstechnadel 3 nach einem Schwenkvorgang immer exakt an der selben Position zu liegen kommt. Zum Verschwenken des Schwenkkopfes 1 dient ein vorzugsweise pneumatisch betätigbarer Schwenkantrieb 18. Dieser Schwenkantrieb 18 sowie die Antriebseinheiten 7, 8



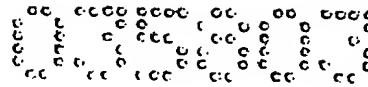
sind mit einer Steuereinrichtung, welche beispielsweise durch einen Rechner 13 gebildet sein kann, verbunden. Von jedem Präparat 5 werden Schnitte 9 angefertigt, welche mit einer Mikroskopkamera 10 aufgenommen werden. Die aufgenommenen digitalen, mikroskopischen Schnittbilder werden in einem mit dem Rechner 13 verbundenen Speicher 11 abgelegt. Die Oberfläche der Präparate 5 wird mit Hilfe einer Kamera 14 aufgenommen und an einer Anzeige 12 dargestellt. Erfindungsgemäß werden die mit Hilfe der Kamera 14 aufgenommenen Oberflächenbilder der Präparate 5 mit ausgewählten Schnittbildern der selben Präparate 5 überlagert und an der Anzeige 12 dargestellt. Nachdem das medizinische Fachpersonal die entsprechenden Schnittbilder und Oberflächenbilder exakt in Deckung gebracht hat, können am Überlagerungsbild Markierungen gesetzt werden, welche den gewünschten Ausstechpositionen der Ausstechnadeln 3 entsprechen. Zu diesem Zweck kann beispielsweise mit einer Computermouse 17 eine entsprechende Markierung auf dem Monitor 12 gesetzt werden. Die Überlagerungsbilder können mit Hilfe des Rechners 13, beispielsweise hinsichtlich des Darstellungsmaßstabes, der Lage, der Farbe usw., verändert werden. Die gesetzten Markierungen können nachträglich selektiert und wieder gelöscht bzw. verschoben werden und zusätzlich Kommentare zu den Markierungen über die Tastatur 19 eingegeben werden. Die Kommentare werden zusammen mit den Positionen für die Markierungen in einem Speicher 11 abgelegt. Zusätzlich können für die gewählten Ausstechpositionen für die Proben auch bestimmte Probenträger 4 zugeordnet werden, in welche die Proben eingebracht werden. Dabei können sogar bestimmte Löcher in den Probenträgern 4 für die jeweilige Probe ausgewählt werden. All diese Daten werden im Speicher 11 bzw. in einem anderen mit dem Rechner 13 verbundenen Speicher abgelegt.

Fig. 2 zeigt ein vereinfachtes Blockschaltbild der Vorrichtung zur Manipulation mit Proben bestehend aus einem Rechner 13, der mit einer Anzeige 12 verbunden ist. Weiters ist der Rechner 13 mit einer Mikroskopkamera 10 zur Aufnahme von digitalen, mikroskopischen Schnittbildern 9 der Präparate 5 sowie einer Kamera 14 zur Aufnahme der Oberflächenbilder der Präparate 5 verbunden. Nach dem Setzen der entsprechenden Markierungen für die Ausstechpositionen wird ein automatischer Ausstechvorgang gestartet und der Schwenkkopf 1, die Drehtische 6, 6' sowie die Antriebseinheiten 7, 8 sowie der Schwenkantrieb 18 des Schwenkkopfes 1



vom Rechner 13 entsprechend angesteuert. Auf diese Weise kann eine große Anzahl von Proben automatisch verarbeitet und in entsprechenden Probenträgern angeordnet werden.

Fig. 3 zeigt ein Flussdiagramm zur Veranschaulichung des Ablaufs des erfindungsgemäßen Verfahrens. Nach dem Start gemäß Block 100 wird die Kennung des ersten Probenträgers 4 entsprechend Schritt 101 eingelesen. Dies erfolgt beispielsweise mit einem entsprechenden Scanner, der den am Probenträger 4 angeordneten Barcode einliest. Entsprechend Abfrage 102 wird nachgesehen, ob ein weiterer Probenträger 4 vorgesehen ist. Der Vorgang 101 wird so oft wiederholt bis alle Probenträger 4 registriert wurden. Entsprechend Block 103 wird die Höhe des ersten Probenträgers 4 ermittelt. Solange entsprechend der Abfrage 104 weitere Probenträger 4 vorhanden sind, wird der Schritt 103 wiederholt und die Höhe aller Probenträger 4 ermittelt. Gemäß Block 105 wird die Größe jedes Probenträgers 4 festgelegt, in dem die Anzahl der im Probenträger 4 vorgesehenen Proben festgelegt wird. Entsprechend Abfrage 106 wird Block 105 für alle Probenträger 4 wiederholt. Gemäß Block 107 wird die Kennung des ersten Präparats 5 eingelesen. Entsprechend Block 108 wird ein Oberflächenbild des Präparats 5 angefertigt und an einer Anzeige dargestellt. Gemäß Block 109 wird aus einem Speicher ein bestimmtes Mikroskopbild dieses Präparats 5 ausgewählt und mit dem im Block 108 aufgenommenen Oberflächenbild überlagert. Gemäß Block 110 wird beispielsweise unter Zuhilfenahme einer Computermouse eine Markierung gesetzt, an der eine Probe aus dem Präparat 5 ausgestochen werden soll. Gemäß Abfrage 111 wird abgefragt, ob weitere Markierungen gesetzt werden sollen, in welchem Fall Block 110 entsprechend oft wiederholt wird. Gemäß Block 112 wird der für die Proben des Präparats 5 gewünschte Probenträger ausgewählt und den gesetzten Markierungen zugeordnet. Die Schritte gemäß 107 bis 112 werden für alle vorhandenen Präparate 5 entsprechend wiederholt. Dazu wird gemäß Abfrage 113 das nächste Präparat 5 erfragt. Wurde das letzte Präparat bearbeitet und alle Markierungen gesetzt, wird gemäß Block 114 der Ausstechvorgang gestartet. Wenn alle Proben aller Präparate 5 in den entsprechenden Probenträgern 4 angeordnet wurden, wird der Vorgang entsprechend Block 115 beendet. Dieses Flussdiagramm zeigt nur die Hauptkomponenten des erfindungsgemäßen Verfahrens, Verfahrensschritte zur Bearbeitung der Überlagerungsbilder zum Verändern der Markierungen und zum Be-



einflussen des Ausstechvorgangs wurden nicht berücksichtigt.

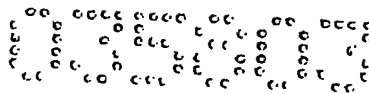
Fig. 4 zeigt eine Draufsicht auf einen Probenträger 4 mit insgesamt 487 Positionen für Löcher 20 zur Aufnahme von 487 Proben. Dabei sind die Löcher 20 in einem Muster angeordnet, welches eine eindeutige Zuordnung der Proben auch nach der Herstellung von Schnitten zulässt. Im dargestellten Beispiel sind mit einem Teil der Löcher 20 die Spalten binär codiert. Somit ist es nach den Schnitten nicht möglich die Proben durch Umdrehen des Glas-trägers oder Verdrehen des Glasträgers zu verwechseln. Natürlich gibt es verschiedene andere Möglichkeiten derartig eindeutige Zuordnungen zu erzielen.

Die vorliegende Erfindung bietet zur Unterstützung der Auswahl der Ausstechpositionen an den Präparaten die Information von Mikroskopbildern an und erlaubt zusätzlich einen Rückschluss der Proben auf die Ausstechpositionen auf dem Mikroskopbild, und somit eine bessere Dokumentation und eine Qualitätskontrolle des gesamten Vorgangs.

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, wobei aus Präparaten, insbesondere präparierten Gewebeteilen mit Hilfe von Nadeln an definierten Positionen Proben ausgestochen werden, welche Proben in freigestochene Löcher in Probenträgern eingebracht werden, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest ein digitales, mikroskopisches Bild eines Schnitts eines Präparats mit einem Bild der Oberfläche dieses Präparats überlagert wird, und dass auf dem überlagerten Bild Markierungen gesetzt werden, welche die gewünschten Positionen definieren, an welchen die Proben automatisch ausgestochen und in die Löcher der Probenträger eingebracht werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass sich die digitalen, mikroskopischen Bilder eines Schnitts eines Präparats aus mehreren Segmenten zusammensetzen, welche vor der Überlagerung mit dem Bild der Oberfläche dieses Präparats zusammengesetzt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das digitale, mikroskopische Bild eines Schnitts eines Präparats bzw. die Segmente des digitalen, mikroskopischen Bildes entzerrt oder von Artefakten befreit wird bzw. werden.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass die Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennung für das Präparat in einer Datenbank gespeichert werden.
5. Verfahren nach Anspruch 1 oder 4, dadurch gekennzeichnet, dass für jedes Präparat mehrere digitale Schnittbilder ausgewählt werden können.
6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass der Darstellungsmaßstab der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet,





zeichnet, dass die Orientierung der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verschoben werden können.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die Farbe der Schnittbilder, Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder verändert werden kann.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass der Durchscheingrad der Oberflächenbilder in Bezug auf die Schnittbilder verändert werden kann.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Transparenz der Schnittbilder verändert werden kann.

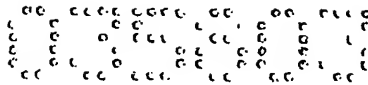
12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass eine einer Kennung für das Präparat zugeordnete Patienteninformation oder dergl. zusammen mit dem Überlagerungsbild angezeigt wird.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen gekennzeichnet, vorzugsweise fortlaufend nummeriert werden.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen selektiert und gelöscht werden können.

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass gesetzte Markierungen selektiert und in ihrer Lage verändert werden können.

16. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen Kommentare zugeordnet werden.



17. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen Probenträger zur Einbringung der ausgestochenen Proben zugeordnet werden.

18. Verfahren nach Anspruch 17, dadurch gekennzeichnet, dass den gesetzten Markierungen bestimmte Löcher in den Probenträgern zugeordnet werden.

19. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass die Löcher für die Proben in dem Probenträger in einem Muster angeordnet werden, welches Muster durch Anordnungen der Löcher in Form eines Binärcodes gebildet ist und dadurch eine eindeutige Zuordnung der Proben zulässt.

20. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 19, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Ausstechvorgang die Position der Oberfläche der Präparate detektiert wird und die detektierten Positionswerte zusammen mit einer Kennung für die Präparate gespeichert werden.

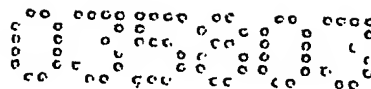
21. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Freistechvorgang die Position der Oberfläche der Probenträger detektiert wird und die detektierten Positionswerte zusammen mit einer Kennung für die Probenträger gespeichert werden.

22. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 21, dadurch gekennzeichnet, dass die Stechtiefe der Ausstech- und Freistechvorgänge ausgewählt und den Markierungen zugeordnet werden können.

23. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 22, dadurch gekennzeichnet, dass nach dem Setzen der letzten Markierung am letzten Präparat der automatische Ausstechvorgang gestartet wird.

24. Verfahren nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, dass der Ausstechvorgang unterbrochen und fortgesetzt werden kann.

25. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 24, dadurch gekennzeichnet, dass vor dem Start des Ausstechvorganges alle Löcher in den Probenträgern freigestochen werden.



26. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 25, dadurch gekennzeichnet, dass nach zumindest mehreren Ausstechvorgängen bzw. Freistechvorgängen die Ausstechnadel bzw. Freistechnadel gereinigt wird.

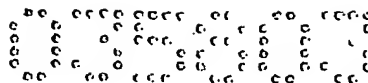
27. Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einer Nadel (3) zum Ausstechen von Proben aus Präparaten (5), insbesondere aus präparierten Gewebeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung (13) zum Steuern der Nadel (3), dadurch gekennzeichnet, dass eine Kamera (14) zur Aufnahme von Bildern der Oberfläche der Gewebeteile (5), weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder der Präparate (5) mit in einem Speicher (11) abgelegten digitalen, mikroskopischen Bildern von Schnitten dieser Präparate (5), weiters eine Anzeige (12) zur Darstellung der Überlagerungsbilder und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen vorgesehen ist, welche mit der Steuereinrichtung (13) verbunden ist.

28. Vorrichtung nach Anspruch 27, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zum Zusammensetzen der digitalen, mikroskopischen Bilder von Schnitten der Präparate (5) aus mehreren Segmenten vorgesehen ist.

29. Vorrichtung nach Anspruch 27 oder 28, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest eine Nadel (2) zum Freistechen von Löchern (34) in Probenträgern (4), in welche die ausgestochenen Gewebeproben eingebracht werden, vorgesehen ist.

30. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 29, dadurch gekennzeichnet, dass eine Datenbank (11) zum Speichern der Markierungen bzw. deren Koordinaten zusammen mit einer Kennungen für das Präparat (5) und allenfalls einer Patienteninformation oder dergl. vorgesehen ist.

31. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 30, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Darstellungsmaßstabes der Schnittbilder (9), Oberflächenbilder und bzw.



oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

32. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 31, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Orientierung der Schnittbilder (9), Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

33. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 32, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Verschiebung der Schnittbilder (9), Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

34. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 33, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Farbe der Schnittbilder (9), Oberflächenbilder und bzw. oder Überlagerungsbilder vorgesehen ist.

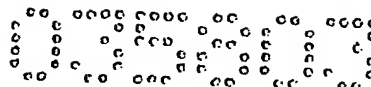
35. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 34, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung des Durchscheingrads der Oberflächenbilder in Bezug auf die Schnittbilder (9) vorgesehen ist.

36. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 35, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Änderung der Transparenz der Schnittbilder (9) vorgesehen ist.

37. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 36, dadurch gekennzeichnet, dass die Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen durch eine Computermouse (17) gebildet ist.

38. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 37, dadurch gekennzeichnet, dass eine Einrichtung zur Detektion der Position der Oberfläche der Probenträger (4) und bzw. oder Präparate (5) vorgesehen ist.

39. Vorrichtung nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, dass ein Speicher (12) für die detektierten Positionswerte der Probenträger (4) bzw. Präparate (5) zusammen mit einer Kennung dieser Probenträger (4) bzw. Präparate (5) vorgesehen ist.



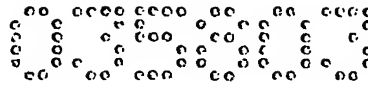
40. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 27 bis 39, dadurch gekennzeichnet, dass zumindest eine Freistechnadel (2) und zumindest eine Ausstechnadel (3) auf einem Schwenkkopf (1) montiert sind, welcher über einen vorzugsweise pneumatischen Schwenkantrieb (18) betätigbar ist.

41. Vorrichtung nach Anspruch 40, dadurch gekennzeichnet, dass eine Antriebseinrichtung (7) zum Verschieben des Schwenkkopfes (1) gegenüber den Probenträgern (4) bzw. Präparaten (5) vorgesehen ist.

42. Computerprogrammprodukt, das direkt in den internen Speicher eines digitalen Computers geladen werden kann und Softwarecodeabschnitte umfasst, wobei mit dem Computer die Schritte des Verfahrens gemäß einem der Ansprüche 1 bis 26 abgearbeitet werden, wenn das Produkt auf dem Computer läuft.

43. Computerprogrammprodukt gemäß Anspruch 42, wobei es auf einem computerlesbaren Medium gespeichert ist.

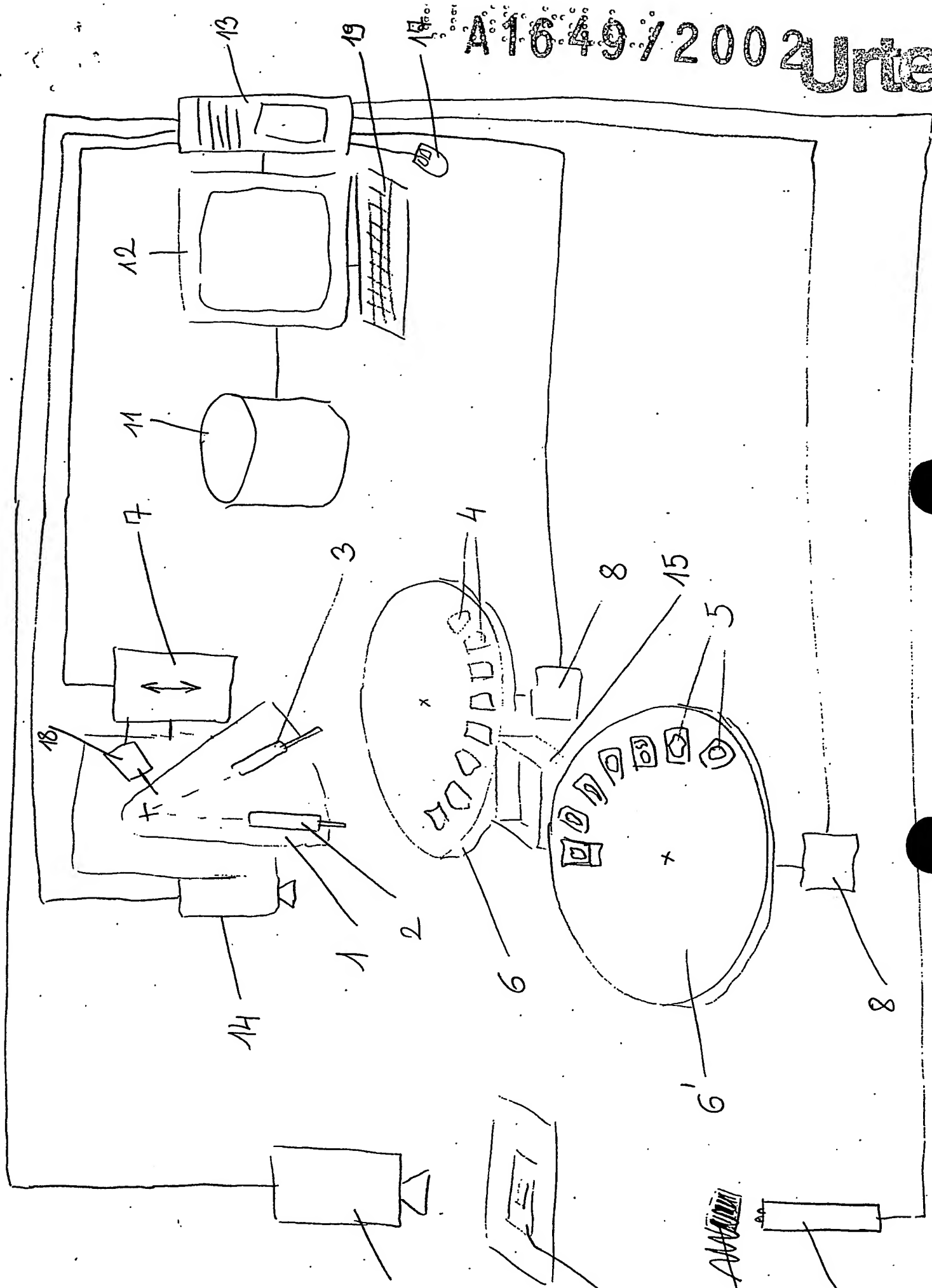
GH/st



### Zusammenfassung:

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Manipulation mit Proben, insbesondere Gewebeproben, mit zumindest einer Nadel (3) zum Ausstechen von Proben aus Präparaten (5), insbesondere aus präparierten Gewebeteilen an definierten Positionen und einer Steuereinrichtung (13) zum Steuern der Nadel (3). Zur Schaffung eines Verfahrens bzw. einer Vorrichtung, welche eine einfache Möglichkeit der Auswahl der gewünschten Ausstechpositionen auf den Präparaten (5) zulässt und welches rasch und einfach und automatisch eine Manipulation mit Proben zulässt, ist eine Kamera (14) zur Aufnahme von Bildern der Oberfläche der Präparate (5), weiters eine Einrichtung zur Überlagerung der aufgenommenen Bilder der Präparate (5) mit in einem Speicher abgelegten digitalen, mikroskopischen Bildern von Schnitten dieser Präparate (5), weiters eine Anzeige (12) zur Darstellung der Überlagerungsbilder und weiters eine Einrichtung zum Setzen von Markierungen zur Festlegung der definierten Ausstechpositionen vorgesehen, welche mit der Steuereinrichtung (13) verbunden ist.

(Fig. 1)



7. 11

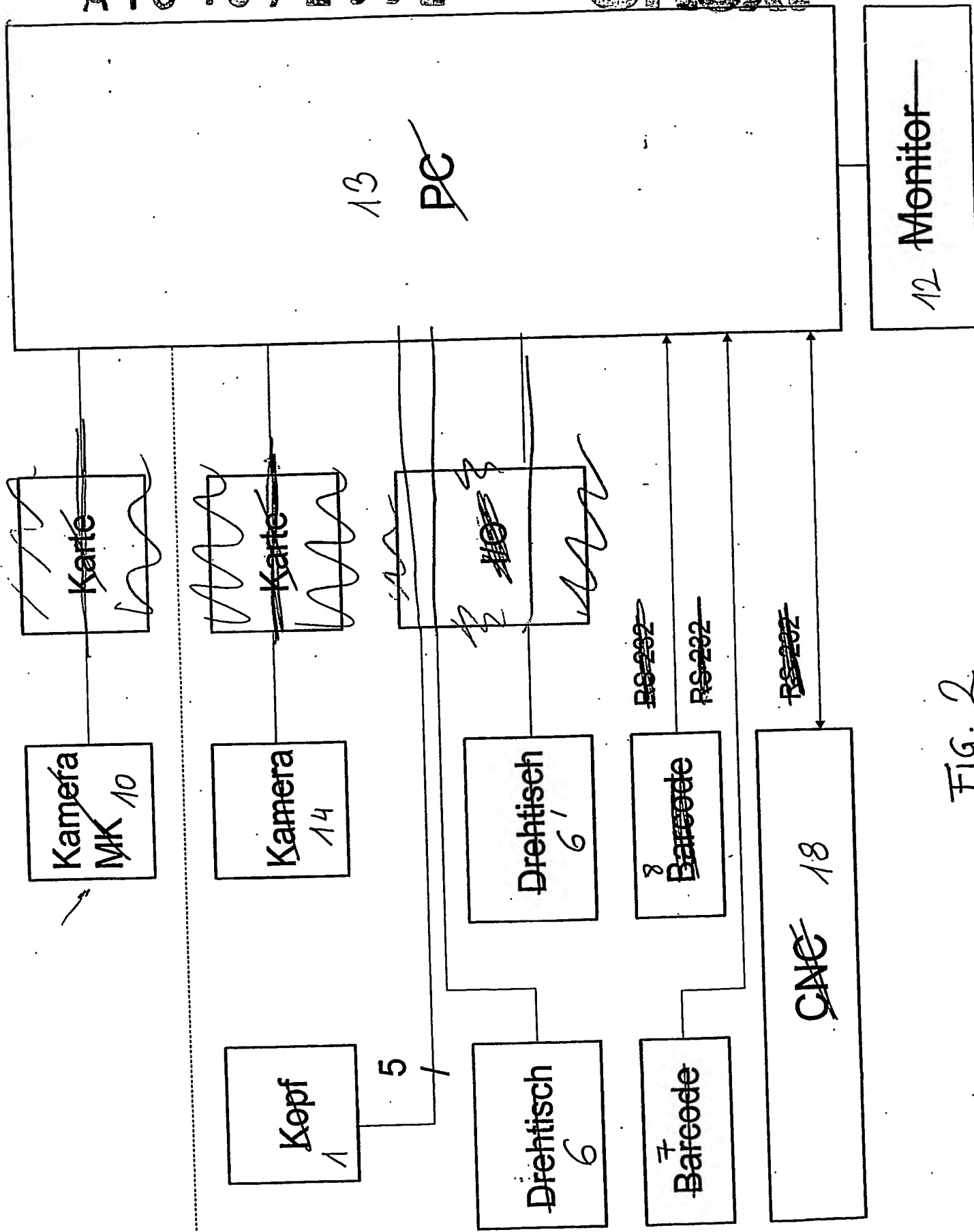


FIG. 2



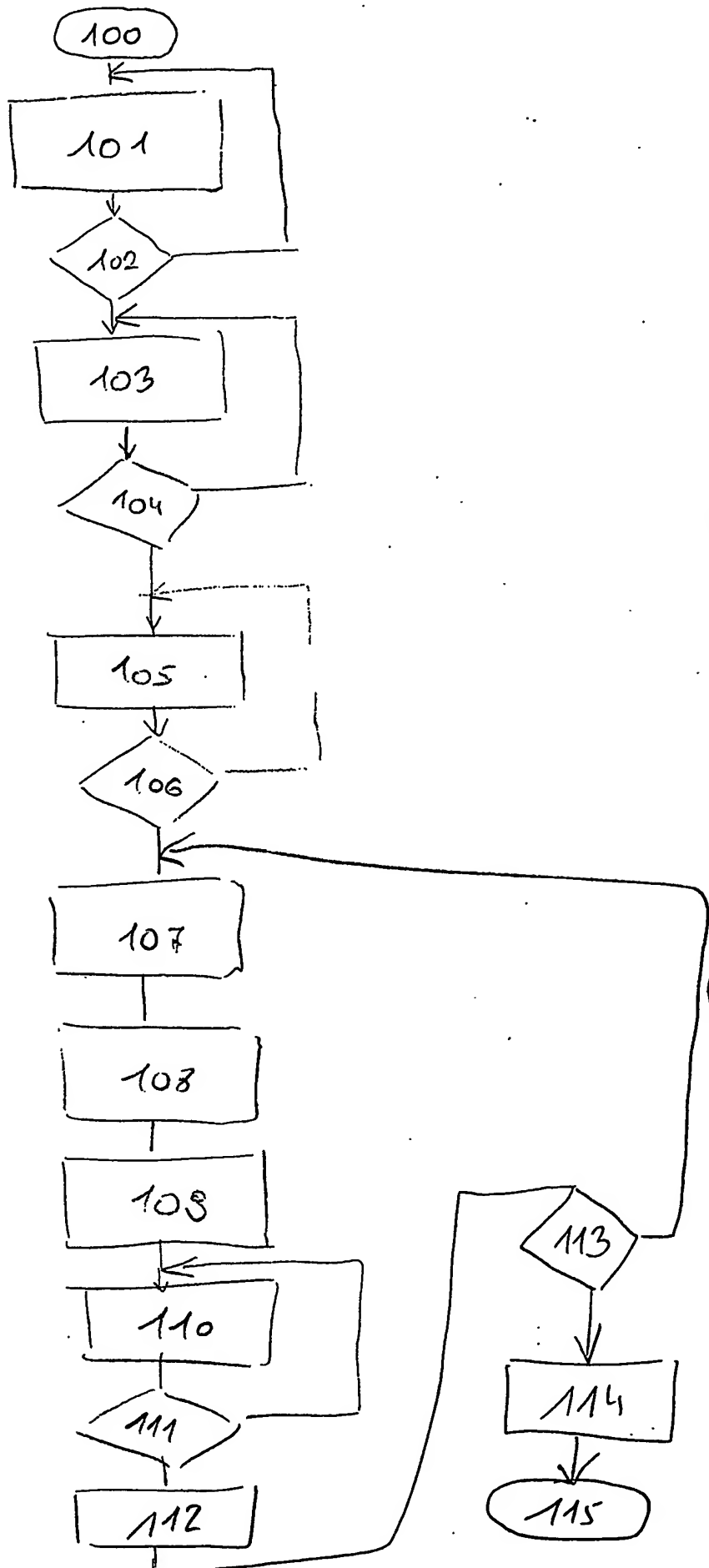


Fig. 3

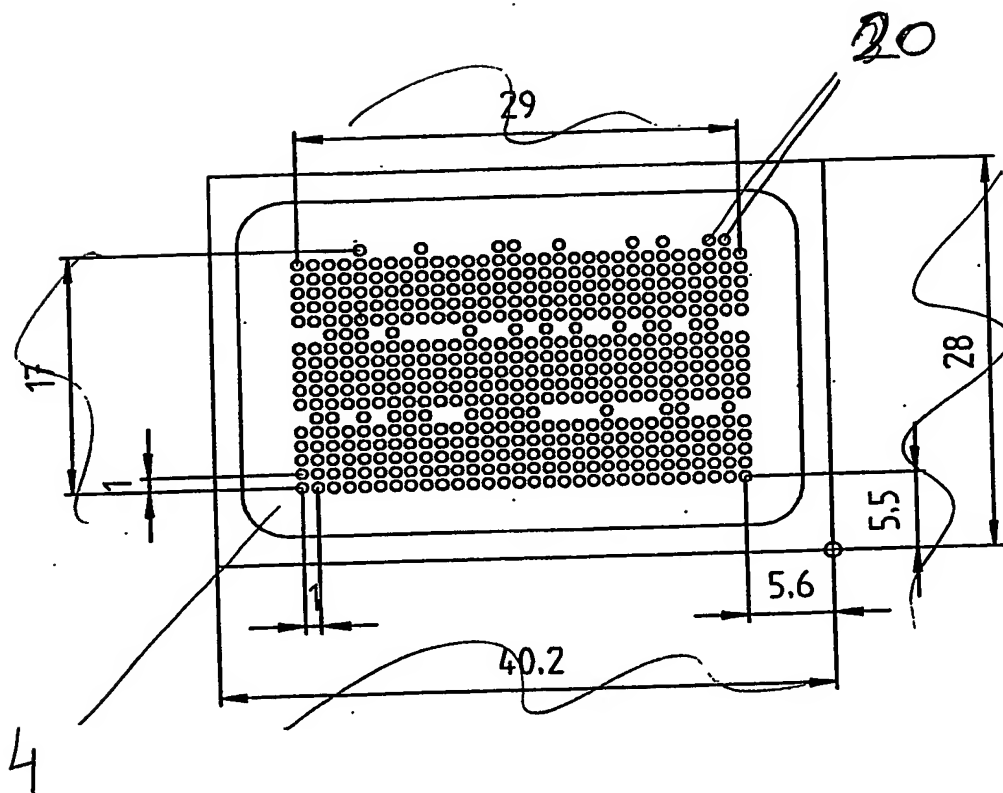


Fig. 4

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: \_\_\_\_\_**

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**